Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Микробиологическое измерение концентрации клеток и спор микроорганизмов в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе

Сборник методических указаний
МУК 4.2.2233—4.2.2239—07

Издание официальное

Москва • 2010

gost.e-ecolog.ru

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Микробиологическое измерение концентрации клеток и спор микроорганизмов в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе

Сборник методических указаний
МУК 4.2.2233—4.2.2239—07

ББК 51.21
М59

М59 **Микробиологическое** измерение концентрации клеток и спор микроорганизмов в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе: Сборник методических указаний.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010.—63 с.

ISBN 978—5—7508—0822—9

1. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 29 марта 2007 г. № 1).

2. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 6 августа 2007 г.

ББК 51.21

ISBN 978—5—7508—0822—9

© Роспотребнадзор, 2010
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
6 августа 2007 г.
Дата введения: 1 октября 2007 г.

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Микробиологическое измерение концентрации клеток микроорганизма *Peniciilium canescens F-912* – продуцента β-ксиланазы в атмосферном воздухе населенных мест

Методические указания МУК 4.2.2239—07

1. Общие положения и область применения

Настоящие методические указания устанавливают методику проведения микробиологического количественного анализа концентрации клеток штамма *Penicillium canescens F-912* в атмосферном воздухе населенных мест в диапазоне концентраций от 100 до 5 000 клеток в 1 $м^3$ воздуха.

Методические указания разработаны с целью обеспечения микробиологического контроля штамма *Penicillium canescens F-912* в атмосферном воздухе и оценки соответствия уровня его содержания гигиеническим нормативам на основе учета требований ГОСТ 17.2.4.02—81 «Охрана природы. Атмосфера. Общие требования к методам определения загрязняющих веществ» и ГОСТ 8.563—96 ГСИ «Методики выполнения измерений».

Методические указания предназначены для центров, осуществляющих государственный санитарно-эпидемиологический надзор, санитарных лабораторий биотехнологических предприятий, микробиологических лабораторий научно-исследовательских институтов, работающих в области гигиены окружающей среды.

2. Характеристика штамма *Penicillium canescens F-912*

Штамм мицелиального гриба *Penicillium canescens F-912* является продуцентом для синтеза эндо-(1-4)-β-ксиланазы микробиологическим способом. На сусло-агаре (пивное неохмеленное сусло 7°Б) диаметр 5-суточных колоний, посеянных уколом, составляет 6—7,5 см, с ровным краем, обратная сторона колоний имеет оранжево-темнокоричневую окраску, воздушный мицелий зеленоватого цвета. Конидиеносцы имеют вид кисточек размером 430—450 × 3—3,2 мкм, конидии 2—2,2 мкм, шаровидные, в молодом возрасте гладкие, в старом шероховатые, образуются в цепочках, соединяются в колонки, со временем распадающиеся. Оптимальная температура роста 30 °С, при значении pH среды 4,1—5,8. Желатин разжижает слабо. Хорошо усваивает моно-, ди- и полисахариды, за исключением арабинозы. Хорошо усваивает аммонийный и нитратный азот, пептон, мочевину. Устойчив к гигромицину 100 мкг/мл.

Область применения штамма – целлюлозно-бумажная промышленность при отбеливании бумаги.

Предельно допустимая концентрация микроорганизма в атмосферном воздухе населенных мест – 500 кл./м^3, 3 класс опасности, пометка А.

3. Пределы измерений

Методика обеспечивает выполнение измерений количества клеток микроорганизма в атмосферном воздухе населенных мест в диапазоне концентраций от 100 до 5 000 клеток в 1 м^3 воздуха при доверительной вероятности 0,95.

4. Метод измерений

Метод измерения концентрации штамма основан на аспирации из воздуха микробных клеток на поверхность плотной питательной среды (сусло-агар, содержащий гигромицин в концентрации 100 мкг/мл) и подсчета выросших колоний после инкубации среды в течение 2 сут. при 30 °С.

5. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

При выполнении измерений применяют следующие средства измерений, вспомогательные устройства и материалы.

5.1. Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы

Прибор для бактериологического анализа воздуха MAS – 100 ECO производства фирмы Merk (Германия)	
Прибор для бактериологического анализа воздуха, модель 818 (щелевой прибор Кротова)	ТУ 64-12791—77
Термостаты электрические суховоздушные или водяные	
Автоклав электрический	ГОСТ 9586—75
Бокс, оборудованный бактерицидными лампами	
Холодильник бытовой	
Весы лабораторные аналитические, типа ВЛА-200	
Микроскоп биологический с иммерсионной системой типа «Биолам» Л-211	
Водяная баня или водяной термостат	
Газовая горелка или спиртовка лабораторная	
Чашки Петри бактериологические плоскодонные стеклянные, диаметром 90 мм	ГОСТ 23932—90
Петли бактериологические	ГОСТ 10515—75
Пробирки биологические, вместимостью 20 и 35 мл	ГОСТ 1770—74
Пипетки мерные на 1, 5 и 10 мл	ГОСТ 1770—74
Колбы конические, вместимостью 250 и 500 мл	ГОСТ 9586—75
Секундомер	ГОСТ 24696—79
Барометр	ГОСТ 9412—77
Марля медицинская	ГОСТ 25556—81
Вата медицинская гигроскопическая	

5.2. Реактивы, растворы

Сусло-агар 7°Б, приготовленный из неохмеленного пивного сусла	
Спирт этиловый ректификат	ГОСТ 5962—67
Антибиотик – гигромицин	
Тест-культура *Penicillium canescens F-912*, музейный штамм, хранят на косяках или в столбиках сусла-агара под вазелиновым стерильным маслом в холодильнике при 4 °С	

6. Требования безопасности

При выполнении измерений концентрации клеток штамма *Penicillium canescens F-912* в атмосферном воздухе населенных мест соблюдают требования:

- санитарных правил СП 1.2.731—99 «Безопасность работы с микроорганизмами III—IV групп патогенности и гельминтами»;
- правил техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.005—88;
- правил электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019—79 и инструкцию по эксплуатации прибора;
- руководства «Положение об организации работы по технике безопасности в микробиологической промышленности» (1980);
- «Инструкции по устройству, требованиям безопасности и личной гигиены при работе в микробиологических лабораториях предприятий микробиологической промышленности» (1977).

Все виды работ с реактивами проводят только в вытяжном шкафу при работающей вентиляции, работа с биологическим материалом осуществляется в боксе, оборудованном бактерицидными лампами.

7. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются лица с высшим или средним специальным образованием, прошедшие соответствующую подготовку и имеющие навыки работы в области микробиологических исследований.

8. Условия измерений

Процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят в нормальных условиях при температуре воздуха (20 ± 5) °С, атмосферном давлении 630—800 мм рт. ст. и влажности воздуха не более 80 %.

9. Проведение измерений

9.1. Условия отбора проб воздуха

Для определения концентрации клеток штамма *Penicillium canescens F-912* атмосферный воздух населенных мест аспирируют со скоростью 10 л/мин на поверхность питательной среды (сусло-агар, содержащий гигромицин в концентрации 100 мкг/мл). Время аспирации воздуха (1—10 мин) зависит от предполагаемой концентрации клеток культуры. Прямой метод позволяет учитывать на чашке Петри до 200 колоний микроорганизма.

Выбранный для бактериологического анализа прибор (п. 5.1) перед каждым отбором пробы воздуха тщательно протирают спиртом. Особенно тщательно обрабатывают поверхность подвижного диска и внутреннюю стенку прибора, наружную и внутреннюю стенку крышки.

На подвижный диск устанавливают подготовленную чашку Петри со средой, одновременно снимая с неё крышку. Прибор закрывают. Соприкосновение крышки прибора со средой недопустимо.

После отбора пробы воздуха и остановки диска прибор открывают, быстро снимают чашку Петри и закрывают крышкой от данной чашки. На дне чашки Петри стеклографом отмечают точку контроля, время аспирации и дату отбора пробы. В период отбора проб воздуха крышку чашки Петри хранят в стерильном пакете из бумаги, полиэтилена или других стерильных ёмкостях.

Отбор проб сопровождается составлением акта отбора с указанием места, времени и условий отбора.

9.2. Выполнение анализа

Сусло-агар расплавляют и остужают до 50 °С. Затем добавляют свежеприготовленный в стерильной дистиллированной воде гигромицин из расчета 100 мкг на 1 мл среды для подавления посторонней воздушной микрофлоры, тщательно перемешивают и разливают в стерильные чашки Петри по 15 мл. Чашки с застывшей средой помещают в термостат при 37 °С на сутки, после чего проросшие чашки бракуют.

После отбора проб воздуха на чашки Петри в приборе их помещают в термостат при температуре 30 °С на 48 ч донышком вверх.

Количественный учет микробных клеток штамма проводится методом подсчета выросших колоний культуры на поверхности агаризованной питательной среды. В качестве контроля выросших колоний используется посев музейного штамма *Penicillium canescens F-912* на сусло-агар в отдельные чашки Петри из расчета 100 клеток микроорганизма в 1 мл стерильного 0,9 %-го раствора хлорида натрия.

10. Вычисление результатов измерений

Расчёт концентрации клеток микроорганизма в пересчете на 1 м^3 воздуха проводят по формуле:

$$X = \frac{N \times 1\,000}{V}, \text{ где}$$

X – концентрация клеток продуцента в воздухе, кл./м^3;

N – количество колоний микроорганизма, выросших на чашке;

1 000 – коэффициент пересчета на 1 м^3 воздуха;

V – объем воздуха, л (произведение скорости на время аспирации).

11. Оформление результатов измерений

Результаты измерений оформляют протоколом по приведенной форме.

Протокол №

количественного микробиологического анализа штамма *Penicillium canescens F-912* в атмосферном воздухе населенных мест

1. Дата проведения анализа _____
2. Место отбора пробы _____
3. Название лаборатории _____
4. Юридический адрес организации _____

Результаты микробиологического анализа

Шифр или № пробы	Определяемый микроорганизм	Концентрация, кл./м^3

Ответственный исполнитель:

Научный руководитель:

Список литературы

1. Руководство по контролю загрязнения атмосферы РД 52.04.186-96. М., 1991. 693 с.

2. ГОСТ 8.563—96 ГСИ «Методики выполнения измерений».

3. ГОСТ 17.2.4.02—81 «Охрана природы. Атмосфера. Общие требования к методам определения загрязняющих веществ». М.: Изд-во стандартов, 1981. 3 с.

4. Государственная фармакопея СССР, 1989, вып. XI. С. 206.

Содержание

Микробиологическое измерение концентрации клеток и спор *Bacillus subtilis 24Д* – действующего вещества микробиологического фунгицида «Интеграл» в воздухе рабочей зоны: МУК 4.2.2233—07 3

Микробиологическое измерение концентрации клеток плесневого гриба *Penicillium canescens PlPh33* – продуцента пектинлиазы и фитазы в воздухе рабочей зоны: МУК 4.2.2234—07 13

Микробиологическое измерение концентрации клеток плесневого гриба *Penicillium canescens PlPh33* – продуцента пектинлиазы и фитазы в атмосферном воздухе населенных мест: МУК 4.2.2235—07 21

Микробиологическое измерение концентрации клеток *Bacillus licheniformis 103* – продуцента α-амилазы в атмосферном воздухе населенных мест: МУК 4.2.2236—07 29

Микробиологическое измерение концентрации клеток *Bacillus licheniformis 103* – продуцента α-амилазы в воздухе рабочей зоны: МУК 4.2.2237—07 37

Микробиологическое измерение концентрации клеток микроорганизма *Penicillium canescens F-912* – продуцента β-ксиланазы в воздухе рабочей зоны: МУК 4.2.2238—07 47

Микробиологическое измерение концентрации клеток микроорганизма *Penicillium canescens F-912* – продуцента β-ксиланазы в атмосферном воздухе населенных мест: МУК 4.2.2239—07 55

Микробиологическое измерение концентрации клеток и спор микроорганизмов в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе

Сборник методических указаний
МУК 4.2.2233—4.2.2239—07

Редакторы Л. С. Кучурова, Е. В. Николаева
Технический редактор А. В. Терентьева

Подписано в печать 1.02.10

Формат 60x88/16 Печ. л. 4,0
Тираж 200 экз. Заказ 5

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 952-50-89

gost.e-ecolog.ru